

THESIS

MARBURG

1969

Aus der Strahlenklinik der Universität Marburg (Lahn)
Direktor: Professor Dr. R. du Mesnil de Rochemont

Die Problematik cytologischer Untersuchungen
von Knochenmark und Milz bei simultaner Kombination
von Cytostatica und ionisierenden Strahlen

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps - Universität zu Marburg

vorgelegt von

Wolfgang Reichelt

aus Brandenburg

Marburg 1969

Aus der Strahlenklinik der Universität Marburg (Lahn)
Direktor: Professor Dr. R. du Mesnil de Rochemont

Die Problematik cytologischer Untersuchungen
von Knochenmark und Milz bei simultaner Kombination
von Cytostatica und ionisierenden Strahlen

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps - Universität zu Marburg

vorgelegt von

Wolfgang Reichelt

aus Brandenburg

Marburg 1969

Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Marburg am: 24. April 1969
gedruckt mit Genehmigung der Fakultät

Dekan: Prof. Dr. med. W. Straub

Referent: Priv. Doz. Dr. med. R. Schneider

Correferent: Prof. Dr. med. R. du Mesnil de Rochemont

INHALTSVERZEICHNIS

I. <u>Einleitung</u>	S. 2
1. Allgemeines	
2. Wirkungsmechanismen	
a) Cytostatica	
b) Bestrahlung	
c) Kombination Cytostatica und Bestrahlung	
II. <u>Problemstellung</u>	S. 9
III. <u>Methodik</u>	S. 10
IV. <u>Normalbefunde</u>	S. 13
V. <u>Befunde nach Behandlung</u>	S. 15
1. Milzcytologie	
2. Knochenmarkcytologie	
VI. <u>Diskussion</u>	S. 29
Literaturverzeichnis	S. 33

I. Einleitung

1. Allgemeines

Nach Einführung der Cytostatica in die Tumorthherapie erhob sich nach den geringen, praktisch nur palliativen Erfolgen die Frage, ob nicht durch Kombination mit Bestrahlung ein besserer Effekt erzielt werden könne. Der sogenannte Begriff der Syncarcinolyse wurde von K. H. BAUER (1) geprägt und besagt, daß verschiedene Therapiearten mit verschiedenen Mechanismen am gleichen Substrat angreifen, sich also in der Wirkung summieren oder potenzieren würden.

Die Literatur über die Kombinationstherapie mit Strahlen und Chemotherapeutica ist inzwischen sehr umfangreich geworden. Auf tierexperimentellem Gebiet veröffentlichten DU MESNIL DE ROCHEMONT, RINGLEB, SCHNEIDER (2), HAAS (3), PETERS und Stein (4), RINGLEB, SCHERER, SCHNABEL (5), SCHNEIDER (6, 7, 32, 33, 62, 75), KOCH und SCHMUTZ (34), BARETT (35), SCHMERMUND (36), BANE (37), TARNOWSKI (52) u. a. ihre Beobachtungen über die Wirkung von Alkylantien und Bestrahlungen mit verschiedensten Modifikationen auf Impftumoren und das hämopoetische System. Aus der großen Anzahl der Veröffentlichungen über dieses Thema auf klinischem Gebiet seien die Arbeiten von KRABBENHOFT (38), WATSON (39), CHEVALIER (42), LINGS (44), KLVANA (45), ALEXANDER (46), LOCHMAN (49), GIL y GIL (50) und KLIGERMANN (51) erwähnt.

Leider konnte bisher noch keine vollkommen selektive Zerstörung des Tumors erreicht werden, da als unerwünschte Nebenwirkung sich immer auch eine Schädigung der schnell proliferierenden Mausepithelgewebe, wie Knochenmark, Lymphknoten, Milz, Gonaden u. ä. ergab. So ist

Art und Grad dieser Schädigung neben der Wirkung auf den Tumor ein wichtiges Kriterium der Anwendbarkeit einer Geschwulsttherapie mit Strahlen und Cytostatica.

2. Wirkungsmechanismen

a) Cytostatica

Seit der empirischen Beobachtung, daß bestimmte Giftgase, die im ersten Weltkrieg Verwendung fanden, eine den Röntgenstrahlen ähnliche Wirkung auf das Knochenmark ausüben, wurde in der folgenden Zeit versucht, diesen cytostatischen, bzw. cytotoxischen Effekt therapeutisch bei schnell wachsenden Tumoren zu verwerten. Die aus diesen Giftgasen hervorgegangenen Substanzen gehören zur großen Gruppe der Alkylantien, die durch Bildung von Alkylbrücken zwischen den Basen verschiedener DNS-Ketten des Kerns die identische Chromosomenreduplikation und damit die Mitose verhindern (9). DOMAGK, GAUSS und PETERSEN (10) entwickelten und prüften im Tierversuch die besonders schnell wirksame Gruppe der Äthyleniminochinone, deren einer Vertreter das hier geprüfte Präparat Trisaethyleniminobenzochinon (Trenimon ^(R)) ist. Nach HOLZER (11) und PÜTTER (9, 12) soll die Hemmung der Glykolyse durch Senkung des wasserstoffübertragenen Coferments Nikotinamidadenindinukleotid (NAD) durch Trenimon eine entscheidende Rolle bei der Schädigung des Tumors spielen, der seine Energie hauptsächlich aus der aeroben Glykolyse bezieht (WARBURG 13). Die Folge ist eine Störung der Energiegewinnung der Tumorzellen mit einer Verminderung des ATP-Gehaltes.

Andere Wirkungsmechanismen wie die Störung der Proteinsynthese (HÖLZEL 14) und der DNS-Synthese (PALME, LISS 15), Aktivierung von Ribonucleasen (HILZ 54), oder Hemmung der

Hexokinase (BURK 55) und Glycerinaldehydhydrogenase (PÜTTER 9) sind weniger bedeutungsvoll für den cytostatischen Effekt des Trenimons. Als morphologischer Ausdruck dieser biochemischen Veränderung finden sich Wachstums- und Mitosehemmungen an schnell wachsenden Tumorzellen wie auch an den übrigen schnell proliferierenden Geweben. Der cytostatische Effekt auf Knochenmark und Milz ist nicht nur abhängig von der Dosis sowie der zeitlichen Verteilung und Dauer der Applikation, sondern auch von der Selektivität der Wirkungsrichtung des Präparats. Die Äthylennimine sollen besonders die Granulopoese und die Lymphopoese beeinflussen, während Erythropoese und Thrombopoese weniger empfindlich zu sein scheinen. (GERHARTZ 56, 57, 58). BIERBRAUER (61) fand bei Untersuchung am Knochenmark von Albinoratten nach einmaliger Gabe von 0,25 mg/kg KG Trenimon intraperitoneal einen starken Abfall der reifen und unreifen Zellen der Granulopoese mit Minima am vierten Tag nach der Applikation, wobei die Stab- und Segmentkernigen stärker betroffen waren als die unreifen Vorstufen. Die Ausgangswerte wurden am zwölften Tag wieder erreicht. Die Erythropoese zeigte ebenfalls ein Minimum am vierten Tag ($1/4$ der Normwerte) mit verzögerter Regeneration. Die Gesamtzellzahl fiel bis zum vierten Tag auf 25 % der Ausgangswerte und erreichte diese wieder am zwölften Tag. GERHARTZ (57) beobachtete bei gleichen Therapiebedingungen ebenfalls eine stärkere Beeinflussung der reifen Granulocyten gegenüber den unreifen weißen Vorstufen im Mark. Die Reaktion der Erythropoese mit verzögerter Regeneration sowie die oben beschriebenen Veränderungen der Gesamtzellzahl konnte er ebenfalls nachweisen. Unter den Bedingungen einer konsekutiven fraktionierten Therapie (16 x 6,5 y/kg KG) fand SCHNEIDER (6, 7, 33) an Normaltieren anfangs eine leichte Rechtsverschiebung der weißen Reihe, die am fünften Tage nach Abschluß der Behandlung in eine Linksverschiebung überging. Nach einer

anfänglichen geringen Verminderung der roten Vorstufen folgte ein starker Anstieg mit einem Maximum am fünften Tag, der sich nur langsam normalisierte, während der übrige Zellbestand am dreizehnten Tag wieder den Normbefunden entsprach. Nach einer cytostatischen Stoßtherapie (3 x 80 y/kg KG alle 12 Tage), der die Bestrahlung vorausging oder folgte, waren die Veränderungen ähnlich, nur war die Rechtsverschiebung der weißen Reihe ausgeprägter und die Regeneration verzögerter. Zahlreiche Übergangsformen von reticulären Zellen in junge Proerythroblasten konnten beobachtet werden. Diese Befunde sprachen für eine stärkere Noxe.

Von BOLLAG (16) wurde in letzter Zeit ein Cytostaticum aus der Gruppe der Methylhydrazine vorgestellt: Das Ibenzmethyazin (Natulan^(R)). Nach BERNEIS (17) kommt es unter Natulan in vitro zu einer Depolimerisation mit Viscositätsabnahme der DNS, die durch OH-Radikale hervorgerufen wird. Diese entstehen bei der Autoxydation des Ibenzmethyazins in Anwesenheit von Sauerstoff. Nach einer Wirkungstheorie von WARBURG (18) ist ein Teil der Strahlenwirkung ebenfalls auf OH-Radikale zurückzuführen. Im Bezug auf den DNS-Abbau besteht also ein Synergismus bei der Kombination mit Bestrahlung (93). FÖLSCH (19) fand außerdem einen verminderten Thymidineinbau als Zeichen gehemmter DNS-Synthese. Das morphologische Äquivalent dieser biochemischen Veränderungen ist eine Herabsetzung des Mitoseindex durch eine verlängerte Interphase sowie Chromatidbrüche bei konstanter Chromosomenzahl (RÜTISHAUSER 20). An verschiedenen Experimentaltumoren konnte unter Ibenzmethyazin in nichttoxischen Dosen sowohl eine Wachstumshemmung implantierter Tumore, als auch deutliche regressive Veränderungen bis zur narbigen Ausheilung beobachtet werden (96, 97, 98, 99). Remissionen klinischer Neoplasien wurden besonders bei der Lymphogranulomatose, weniger ausgeprägt bei Reti-

culosen, Reticulosarkomen und Lymphosarkomen beobachtet (101, 102, 103, 104, 105, 106). Neben diesen cyto-statischen Wirkungen wurden immunsuppressive und carcinogene Eigenschaften beobachtet. (89, 90, 91). In der Haemopoese werden alle Systeme betroffen, wobei die Beeinträchtigung der Erythropoese geringer ist, während die der Myelopoese und Lymphopoese nach verschiedenen Spezies variiert. Bei der Ratte scheint die Wirkung auf die Lymphopoese stark ausgeprägt (95). Der Grund ist in einer größeren Empfindlichkeit dieses Systems zu suchen und nicht Folge einer höheren Wirkstoffkonzentration im lymphopoetischen Gewebe (92).

b) Bestrahlung

Trotz morphologisch ähnlicher Effekte wie durch Cyto-statica der Alkylantiengruppe ist der Wirkungsmechanismus ionisierender Strahlen wahrscheinlich ein anderer. Ein wesentlicher Unterschied besteht in der Applikationsart und Verteilung der Elementarvorgänge (9). Der Biochemismus der Strahlenwirkung ist noch weitgehend ungeklärt. WARBURG (18) stellt eine Hemmung der Glykolyse durch Bildung von OH-Radikalen aus Wasserstoffperoxyd fest. Ferner spielen Reaktionen von Makromolekülen eine Rolle, die sich in einer Hemmung der DNS-Synthese und Veränderung der Chromosomen zeigen (9). Zu dieser direkten Strahlenwirkung, deren Folge abnorme Mitosen, Mitosestopp und Degenerationen sind, kommt noch eine indirekte, die auf einer Zirkulationsstörung im Bestrahlungsgebiet beruht (BANE 59, BARTH, RINGLEB in 9). Für die Strahlensensibilität sind besonders Mitoserate und Differenzierungsgrad bedeutungsvoll (9). Neben der unmittelbaren Strahlenwirkung spielen aber noch Einflüsse übergeordneter Organe eine Rolle, wie die Untersuchungen von BAUER und HARTWEG (86, 87, 88) über die Regu-

lationsmechanismen zwischen Milz und Knochenmark und ihre Beeinflussung durch Bestrahlung gezeigt haben.

Seit Beginn der Strahlenhämathologie ist das Schrifttum ungeheuer angewachsen. Die Ergebnisse sind nicht immer übereinstimmend, da die Untersuchungsmethoden der verschiedenen Autoren unterschiedlich sind. Lokal- und Ganzkörperbestrahlungen führten zu einer Depopularisierung und Lipomatose des Knochenmarks, deren Dauer und Intensität abhängig von der Dosis und der Applikationsform waren. CASATI (22) beobachtete zwanzig Tage nach Bestrahlung mit 800 R ein zellarmes Markparenchym und nach 40 Tagen eine starke Regeneration. R. BAUER fand selbst nach einer einmaligen Lokalbestrahlung von 9000 R noch eine Regeneration, die bei fraktionierter Behandlung mit gleicher Gesamtdosis ausblieb. Übergangsformen von Fibrocyten in Knochenmarkszellen wurden beobachtet (25, 32). Diese Umwandlung konnte aber noch nicht sicher bewiesen werden (64). Die verschiedenen Zellsysteme erschienen unterschiedlich sensibel. Glaubten CASATI (22) und WÜNSCHE (23) die Erythropoese relativ strahlenresistent, kamen neuere Untersuchungen zu gegenteiligen Ergebnissen (21, 60, 64, 79). Die Myeloblasten erschienen entgegen dem Bergonié-Tribondeau'schen Gesetz relativ strahlenresistent (22, 79, 80). Die zeitlich und gradmäßig differente Schädigung und die Regenerationsdynamik der verschiedenen Systeme des Knochenmarks untersuchten LANGENDORFF, PAPPERITZ (24), BLOOM (60), FLIEDNER (83), COTTIER (64), SCHERER und STENDER (82) u. a. mit cytologischen und histologischen Methoden. Neben dem Knochenmark erwies sich auch vor allem die Milz als sehr strahlenempfindlich. Schon bei minimalen Dosen konnten mikroskopisch Schäden nachgewiesen werden (26, 84). Eine fraktionierte Bestrahlung mit kleinen Dosen zeigte stärkere Wirkung als eine einmalige hohe Dosis (78, 84). Die jungen Lymphocyten

schiene besonders sensibel. Eine Vermehrung von Plasmazellen nach Strahlenbelastung könnte auf eine Steigerung der Immuntätigkeit hinweisen (28). Im histologischen Bild kommen die Veränderungen noch deutlicher zum Ausdruck. Verödung der roten und weißen Pulpa und der Germinalzentren, reticuläre Phagocytose mit anschließender Regeneration aus den Zellen des Reticulum mit Auftreten von Riesenzellen stehen im Vordergrund (7, 28, 64, 78, 82).

c) Kombination von Cytostatica und Bestrahlung

Ob eine Kombination von Cytostatica und Bestrahlung im Sinne der anfangs erwähnten Syncarcinolyse (K. H. Bauer, 1) eine Summierung oder gar eine Potenzierung der Wirkung ergibt, kann noch nicht eindeutig beantwortet werden, da sowohl die einzelnen Chemotherapeutika als auch der Verabreichungsmodus (simultan oder konsekutiv) und die Dosierung bei Kombinationen in der Literatur schwer vergleichbar sind (60). Für den klinischen Bereich gibt BANE (37) eine Literaturübersicht. In späteren Veröffentlichungen kommen die meisten Autoren bei einer Kombinationsbehandlung verschiedener klinischer Malignome zu besseren Ergebnissen als bei einer Einzelbehandlung, wobei als Kriterien die Verlängerung der Überlebenszeit die Abnahme der Tumorgröße und die Besserung des subjektiven Befindens dienen (40, 41, 45, 47, 66). Andererseits sind auch gegenteilige Beobachtungen veröffentlicht worden, bei denen keine Verstärkung der Einzeleffekte gefunden werden konnte (43, 46).

Nach manchen Autoren (42) soll ein Summationseffekt nur am Tumor und nicht am Normalgewebe nachweisbar sein. Die tierexperimentellen Befunde sind ebenfalls nicht einheitlich (60). Es kann nicht von den Resultaten einzelner Kriterien auf den Gesamtorganismus geschlossen werden.

PETERS und STEIN (4) sowie GÄRTNER (29) fanden bei einer Kombination von Gammastrahlen mit Trenimon bei Krebskulturen additive Effekte und eine Verlängerung der Strahlenschädigung. Mit einem anderen Äthylenimin kam HAAS (3) zu ähnlichen Ergebnissen. Nach FLEISCHMANN und KARRER (30) bestehen deutliche Unterschiede in der Toxizität der Kombination gegenüber den einfach behandelten Kontrollen einerseits, als auch unter den Kombinationsgruppen mit verschiedener Reihenfolge andererseits. RINGLEB (5) und DU MESNIL ROCHEMONT (2) kamen zu dem Ergebnis, daß die Strahlenbehandlung nach Gabe eines Cytostaticums bezüglich Heilungsquote und Tumorwachstumsaktivität zu den stärksten Wirkungen führt. TARNOWSKI (52), SCHMERMUND (36) sowie SCHNEIDER (32, 33) glauben mit der Kombinationstherapie bessere Ergebnisse bei Tieren mit Impftumoren gefunden zu haben, BARETT (35) fand im Gegensatz zu KOCH (34) eine verstärkte depressive Wirkung auf die Hämapoese. SCHNEIDER (62) weist auf die additive Wirkung bei simultaner Kombination mit submaximalen therapeutischen Dosen auf Teilmechanismen hin, während sich dieser Effekt nicht an der Überlebenszeit zeigte. Nach einer Untersuchung von LÖHR, SCHNEIDER und BUCHELT (31), die parallel zu dieser Arbeit durchgeführt wurde, wirken die Kombinationen von Bestrahlung und Cytostatica scheinbar weniger toxisch auf den Stoffwechsel der energiereichen Phosphate als die Einzelbehandlung. Möglicherweise werden feinere Veränderungen mit dieser Methode nicht erfaßt.

II. Problemstellung

In der vorliegenden experimentellen Arbeit soll an Hand der Cytologie von Knochenmark und Milz die Wirkung der Cytostatica Trisäthyleniminobenzochinon (Trenimon ^(R)) und p- (N-Methylhydrazinomethyl) - N isopropyl-benzamid-

hydrochlorid (Natulan^(R)) in hohen Einzeldosen sowie deren Kombination mit ionisierenden Strahlen in Form einmaliger Ganzkörperbestrahlungen auf das hämopoetische und lymphoreticuläre Gewebe an Albinoratten eines Inzuchtstammes geprüft werden. Es soll besonders untersucht werden, ob sich der Effekt durch eine verschiedene Reihenfolge der therapeutischen Agentien bei unveränderter Dosierung verstärkt. Das Verabreichungsmodus entspricht zwar nicht der in der Klinik üblichen Methode, die einmalige hohe Dosen, besonders bei Bestrahlung, zu umgehen versucht, außerdem keine solch hohe Ganzkörperbestrahlung im allgemeinen durchführt. Verstärkte Effekte dürften sich hingegen besser nach einer solchen Applikation, als nach kleinen Dosen über einige Wochen hinweg (simultan oder alternierend) objektivieren lassen.

III. Methodik

Die Untersuchung wurde an insgesamt 216 weiblichen Albinoratten eines Inzuchtstammes mit einem Durchschnittsgewicht von 200 g durchgeführt. Die mit standardisierten Preßfutter ernährten Tiere waren zu je fünf in einem Käfig untergebracht. Geprüft wurden die Cytostatica Trenimon^(R) (Trisäthyleniminobenzochinon) der Farnefabriken Bayer AG., Leverkusen, und Natulan^(R) (P-(N-Methylhydrazinomethyl)-N-Isopropylbenzanid-Hydrochlorid) der Fa. Hoffman-La Roche. Die Chemotherapeutica wurden als einmalige Einzeldosis von 100 mg/kg KG (Natulan^(R)) und 100 y/kg KG (Trenimon^(R)) intraperitoneal gespritzt. Das entsprach bei Trenimon^(R) etwa 1/5 der LD 50, bei Natulan^(R) 1/3. Bei Trenimon^(R) wurde die Dosis im Bezug auf die LD 50 niedriger als bei Natulan^(R) gewählt, da erfahrungsgemäß die Nebenwirkungen bei diesem Präparat größer sind. Die Strahlenbehandlung wurde als einmalige Ganzkörperbestrahlung unter konventionellen

Röntgentiefentherapiebedingungen mit 150 R durchgeführt. (1'45'' bei 190 KV und 16 mA mit 5 mm Cu-Filter, FHA=50 cm). Die Tiere befanden sich zu je sechs in einem Glasgefäß, über dem das Bestrahlungsgerät mit einem Tubus von 20 x 24 cm angebracht war. Das Knochenmark wurde durch Spaltung des rechten Femur mit einer Lanzette gewonnen, dünn ausgestrichen und nach PAPPENHEIM gefärbt. Für die Milzcytologie wurden Tupfpräparate angefertigt und ebenfalls nach PAPPENHEIM gefärbt. Die Auszählung erfolgte an im Verband liegenden Zellgruppen. Zur Zelldifferenzierung wurden die Untersuchungen von KÖHLER (8) herangezogen. Die Promyelocyten und Myelocyten sowie Metamyelocyten und Stabkernige im Mark wurden jeweils zu einer Gruppe zusammengefaßt, während zu den reticulären Zellen Monocyten, Plasmazellen, kleine lymphoide Zellen, Gewebsbasophile (syn. Kugelzellhaufen) und große Reticulumzellen gezählt wurden. Ein Teil der granuloblastischen Reihe zeigt die für die Ratte charakteristische Lochform. Im Splenocytogramm wurden jeweils die Zellen der roten und weißen Reihe in Gruppen zusammengefaßt, während die lymphatische Reihe weiter in Lymphoblasten, junge Lymphocyten und kleine lymphoide Zellen differenziert wurde. Plasmazellen, epitheloide Zellen des Reticulum und lymphoide Reticulumzellen bildeten eigene Gruppen. Um Abweichungen im Regenerationsablauf der Mausergewebe feststellen zu können, wurden die Untersuchungen in dreitägigen Abständen am ersten, vierten und siebten Tag nach dem jeweiligen Behandlungsende durchgeführt. Um die Fehlerbreite und individuelle Schwankungen zu verringern, wurde an jedem Kontrolltag von drei gleich behandelten Tieren je ein Knochenmark- und ein Milzpräparat hergestellt und auf 200 Zellen differenziert.

Folgende Tabelle zeigt noch einmal zusammengefaßt die verschiedenen Behandlungsarten und die Häufigkeit der Durchführung der Versuchsreihen:

<u>Art</u>	<u>Häufigkeit</u>
1. Natulan (100 mg/kg KG)	2 x
2. Natulan und Bestrahlung (100 mg/kg KG und 150R)	2 x
3. Bestrahlung und Natulan (150R und 100 mg/kg KG)	2 x
4. Trenimon (100 y/kg KG)	3 x
5. Trenimon und Bestrahlung (100 y/kg KG und 150R)	3 x
6. Bestrahlung und Trenimon (150R und 100 y/kg KG)	3 x
7. Bestrahlung (150 R GKB)	5 x

Die arithmetischen Mittel der jeweiligen gleichen Gruppen ergeben die endgültigen Vergleichsprozentszahlen. Die Prozentzahlen stellen relative Werte dar, so daß Änderungen in einer Gruppe sich auch bei den anderen Gruppen bemerkbar machen. Als weitere, wenn auch ungenaue, Beurteilungsmöglichkeit von Veränderungen des Knochenmarks wurden noch Zellreichtum, Blutreichtum, und Fettvakuolisierung geschätzt.

IV. Normalbefunde

1. Splenocytogramm

Lymphoblasten	2 %
junge Lymphocyten	57 %
kleine lymphoide Zellen	29 %
epitheloide Zellen	2,5 %
Plasmazellen	1 %
lymphoide Reticulumzellen	1,5 %
weiße Zellen	7 %
rote Zellen	0 %

2. Hämomyelogramm

Promyelocyten, Myelocyten	13 %
Metamyelocyten, Stabkernige	18 %
rote Vorstufen	39 %
Reticulumzellen (davon 19 % kleine lymphoide Zellen)	23 %
Segmentkernige	2 %

Tabelle der Milzcytologie

I. Tag

K	$\frac{1}{2}$	T	N	T+ $\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$ +T	N+ $\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$ +N	
2,0	2,2	1,3	1,5	2,0	2,3	1,7	1,7	Lymphoblasten
57	42	48	53	52	52	52	47	junge Lymphocyten
29	38	33	32	24	23	26	22	kleine lymphoide Zellen
2,5	3,6	2,7	3,0	6,7	3,6	3,3	3,7	epitheloide Zellen
1,0	2,4	2,3	2,0	2,3	2,3	2,7	3,3	Plasmazellen
1,5	4,0	2,3	1,5	1,3	1,0	0,3	1,0	lymphoide Reticulumzellen
7,0	7,8	10	7,0	12,3	15,6	12	20,3	weiße Zellen
0	0,6	0,3	0	0,3	1,6	2,7	1,0	rote Vorstufen

IV. Tag

2,0	1,6	2,0	1,5	2,0	2,6	1,7	2,0	Lymphoblasten
57	36	51,3	55,5	52,3	50,6	54,0	51,0	junge Lymphocyten
29	39,8	22,3	26	19,7	23	22,7	21,3	kleine lymphoide Zellen
2,5	3,2	3,0	4,5	6,3	4,3	5,0	5,0	epitheloide Zellen
1,0	1,8	1,7	1,5	4,3	2,6	1,7	3,3	Plasmazellen
1,5	3,4	2,3	1,5	1,0	1,3	0,7	0,7	lymphoide Reticulumzellen
7,0	12,4	10	8,5	13,3	13	12,3	13	weiße Zellen
0	2,2	0	1,0	1,0	2,3	2,0	3,3	rote Vorstufen

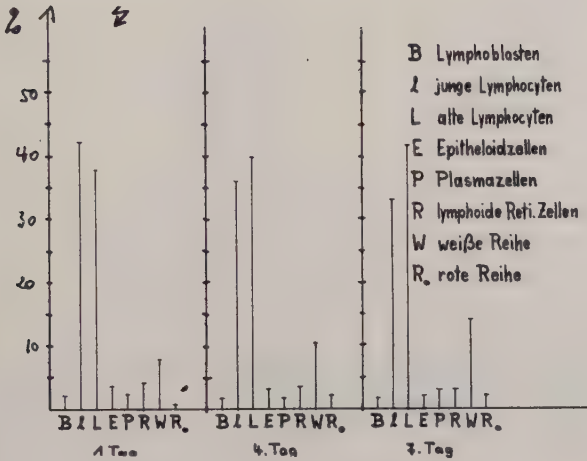
VII. Tag

2,0	1,6	2,0	2,5	1,3	2,3	1,3	1,0	Lymphoblasten
57	33,2	48,3	58	51,3	50,3	53	56	junge Lymphocyten
29	41,6	32	26	32,7	20	19	19,5	kleine lymphoide Zellen
2,5	2,0	3,0	3,0	3,7	2,3	2,0	3,0	epitheloide Zellen
1,0	3,0	3,3	2,0	2,7	2,6	3,5	3,0	Plasmazellen
1,5	3,0	2,3	1,0	1,7	1,0	0,3	0	lymphoide Reticulumzellen
7,0	14	8,0	6,0	13,7	16	11,5	11,5	weiße Zellen
0	2,0	0,8	1,0	2,5	5,3	5,3	6,3	rote Vorstufen

V. Befunde nach Behandlung

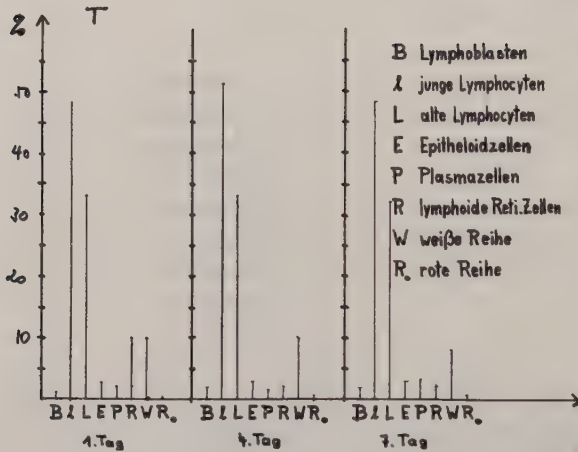
1. Cytologie der Milz

a) Bestrahlung



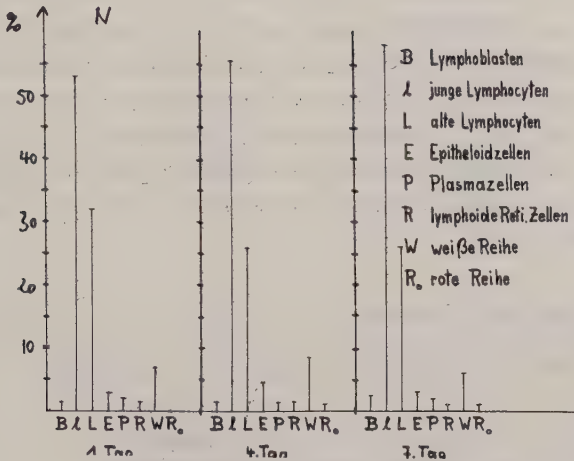
Die jungen Lymphocyten zeigten einen deutlichen prozentualen Rückgang, während die kleinen lymphoiden Zellen entsprechend vermehrt gefunden wurden. In der Folge am vierten und siebten Tag nach Behandlungsende entwickelte sich diese Verteilung noch ausgeprägter, so daß am siebten Tag noch 33 % junge Lymphocyten gegenüber 57 % der Norm und 41 % kleine lymphoide Zellen gegenüber 29 % der Norm gefunden wurden. Die anfänglich vermehrten Plasmazellen und lymphoiden Reticulumzellen normalisierten sich allmählich, während die weißen Zellen, teilweise relativ zum Rückgang der jungen Lymphocyten, am siebten Tag mit 14 % auf das doppelte der Norm gestiegen waren. Rote Vorstufen fanden sich selten.

b) Trenimon



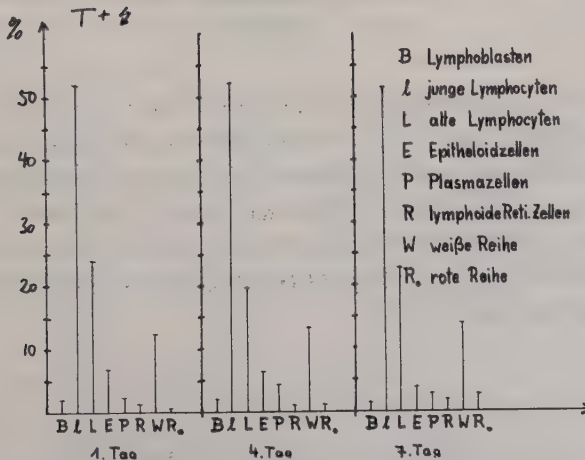
Hier war der Abfall der jungen Lymphocyten nicht so stark wie bei Bestrahlung allein (um 9 % gegenüber der Norm), und die kleinen lymphoiden Zellen stiegen lediglich um 3 %. Auch hier fanden sich Plasmazellen und Reticulumzellen leicht vermehrt. Im Verlauf nach Behandlungsende waren nur sehr geringfügige Änderungen der Verteilung feststellbar.

c) Natulan



Bei dieser Behandlungsart entsprach die Verteilung der Gruppen am ersten Tag nach Behandlungsende fast völlig der Norm und änderte sich auch in der folgenden Zeit bis auf einen angedeuteten Anstieg der jungen Lymphocyten bei ebenso leichtem Rückgang der kleinen lymphoiden Zellen nicht.

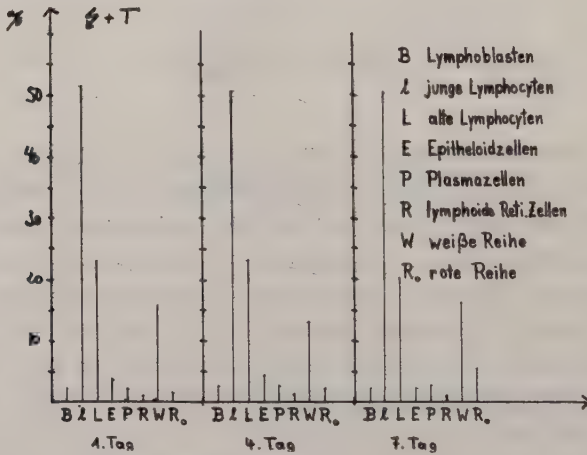
d) Trenimon und Bestrahlung



Bei dieser Kombination fanden sich am ersten Tag die

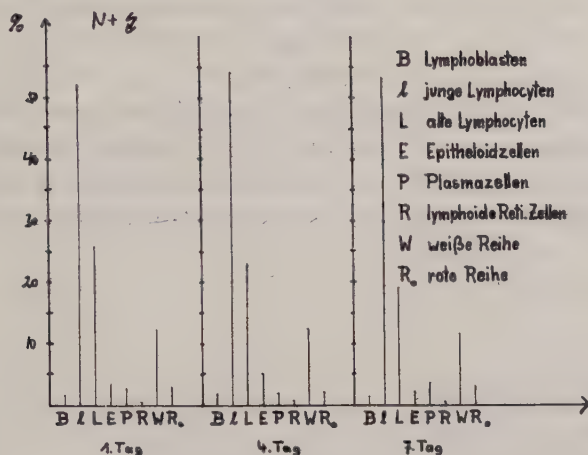
jungen Lymphocyten mit 51 % gering, die kleinen lymphoiden Elemente mit 24 % weit unter der Norm. Die epitheloiden Zellen des Reticulums waren mit 6,7 % (normal 2,5 %) stärker, Plasmazellen und Zellen der weißen Reihe nur leicht erhöht. Nach leichtem weiterem Rückgang der kleinen lymphoiden Zellen zugunsten der Plasmazellen am vierten Tag, näherten sie sich am siebten Tag wieder der Normgrenze. Die weißen Zellen erreichten fast das doppelte der Normalwerte.

e) Bestrahlung und Trenimon



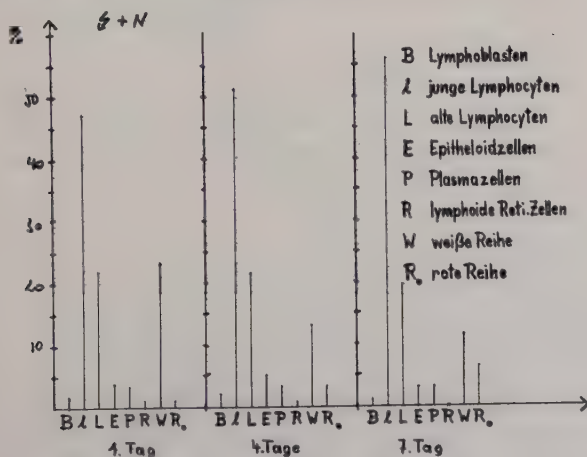
Die umgekehrte Reihenfolge der Behandlungsarten ergab wie oben eine Depression der beiden großen Gruppen der lymphatischen Reihe, auch zugunsten der granulocytären Zellen, die mit 15,6 % weit über die Norm (7 %) angestiegen waren. Diese Tendenz wurde zum siebten Tag noch etwas ausgeprägter. Die roten Vorstufen waren ebenfalls eindeutig vermehrt.

f) Natulan und Bestrahlung



Das Bild dieses Behandlungstyps ähnelte am ersten Tag der Kombination von Trenimon und Bestrahlung. Im Verlauf bis zum siebten Tag zeigte sich jedoch kein Anstieg der kleinen lymphoiden Zellen zur Norm, die zu diesem Zeitpunkt bei 19 % noch um 10 % unter dem Normalwert lagen. Die jungen Lymphocyten blieben annähernd konstant, während weiße und rote Zellen deutlich relativ erhöht waren.

g) Bestrahlung und Natulan



leichter aber stetigen Abfall der kleinen lymphoiden Elemente gleich der vorher besprochenen Therapieart, doch fielen die jungen Lymphocyten mit ca. 10 % auf 47 % stärker bei gleichzeitigem Anstieg der granulocytären Zellen auf 20 % (normal 7 %). Dieses Verhältnis normalisierte sich zum siebten Tag annähernd wieder. Auch hier waren die roten Vorstufen relativ vermehrt.

Tabelle der Knochenmarkscytologie

I. Tag

K	⚡	T	N	N+⚡	T+⚡	⚡+N	⚡+T	
13	19	14	19	19,5	16	31	27	Pro-/Myelocyten
23	29	21	25,5	28	30	28	29	Metamyelocyten, Stabkernige
39	21	36	19	18,5	22	18	26	rote Vorstufen
23	18	16,5	21,5	16,5	17	10,5	11	reticuläre Zellen
2	13	12,5	14	17,5	15	12,5	7	Segmentkernige

IV. Tag

13	12	12	12,5	12	12	12,5	14	Pro-/Myelocyten
23	17	14	20	13,5	15	12,5	11	Metamyelocyten/Stabkernige
39	50	55	35	48,5	53	59,5	66	rote Vorstufen
23	14	14	20,5	16	15	10	7	reticuläre Zellen
2	7	5	10,5	9	5	5,5	2	Segmentkernige

VII. Tag

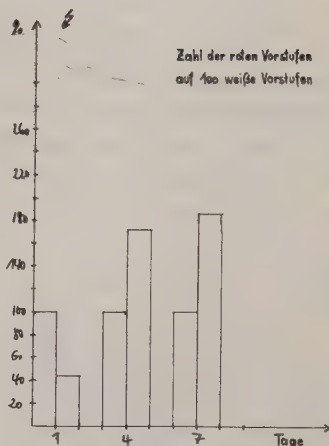
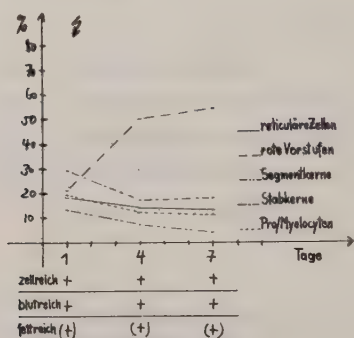
13	11	11	10	11	10	11,5	8	Pro-/Myelocyten
23	18	15	18	14,5	19	11,5	13	Metamyelocyten, Stabkernige
39	54	55	48	55,5	52	64,5	69	rote Vorstufen
23	13	13	18,5	14	12	8	7	reticuläre Zellen
2	4	6	5,5	5,5	7	4,5	3	Segmentkernige

Zahl der roten Vorstufen auf 100 weiße Vorstufen
(errechnete Vergleichswerte)

K	⚡	T	N	N+⚡	T+⚡	⚡+N	⚡+T	
141	44	103	43	39	48	31	46	1. Tag
141	172	211	109	192	196	238	264	IV. Tag
141	186	211	171	220	179	278	329	VII. Tag

2. Cytologie des Knochenmarks

a) Bestrahlung

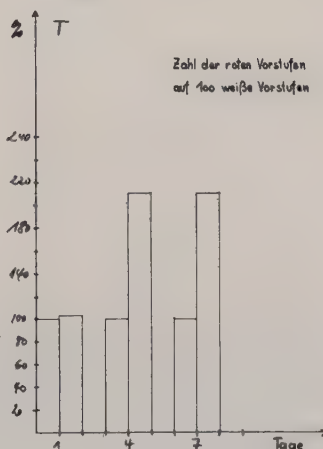
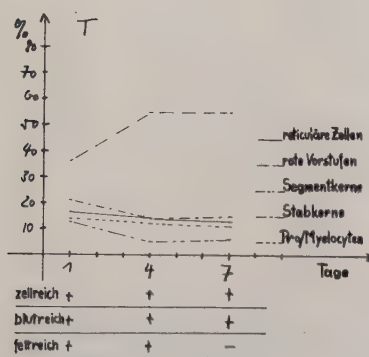


Am ersten Tag nach Behandlungsende kam es zu einer deutlichen Vermehrung der Zellen der weißen Reihe, wobei der Anstieg alle Gruppen fast gleichmäßig betraf. Die reticulären Zellen und besonders die roten Vorstufen zeigten einen starken Abfall gegenüber den Kontrollwerten unbehandelter Tiere. So betrug das Verhältnis von weißen Vorstufen zu roten Vorstufen 100 : 44 gegenüber 100 : 141 der Norm. (Als Bezugsszahl wurden gleichmäßig immer 100 weiße Vorstufen genommen). Plasmazellen und eosinophile Granulocyten fanden sich zahlreich. Es zeigt sich außerdem eine mäßige Fettvakuolisierung.

Am vierten Tag nach Behandlungsende waren die Prozentsätze der Zellen der weißen Reihe wieder auf ihre Normwerte zurückgegangen. Lediglich die Segmentkernigen blieben noch leicht erhöht. Dagegen war ein starker Anstieg der roten Vorstufen zu verzeichnen, die auf ein Verhältnis von 100 : 172 zu den weißen Vorstufen anstiegen. Am siebten Tag nach Behandlungsende hatten sich die Gruppen der

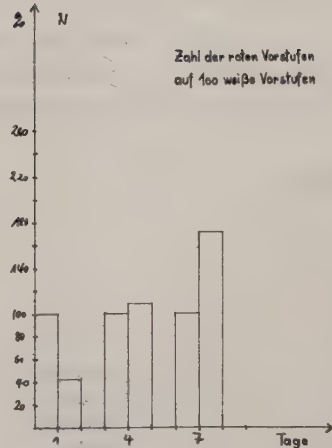
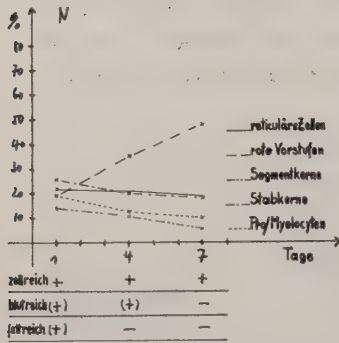
weißen Reihe wieder vollkommen normalisiert, während die roten Vorstufen noch leicht weiter angestiegen waren und den Quotienten von 100 : 186 erreicht hatten. Die reticulären Zellen waren seit dem anfänglichen Abfall bis zum siebten Tag noch leicht zurückgegangen. Fetteinschlüsse waren nur noch selten feststellbar.

b) Trenimon



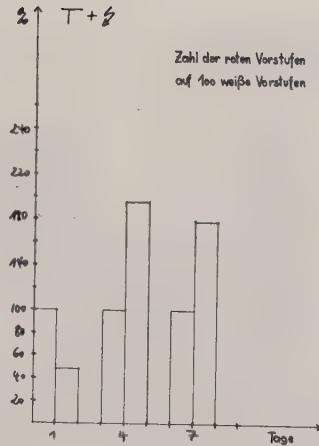
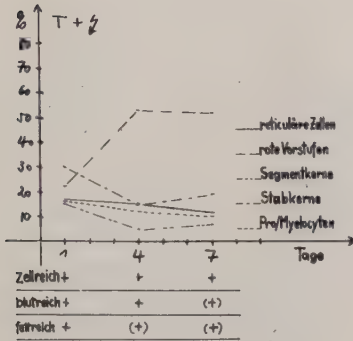
Hier war am ersten Tag nach Behandlungsende der Anstieg der Zellen der weißen Reihe und korrelativ dazu der Abfall der roten Vorstufen nicht so ausgesprochen wie bei Bestrahlung allein, während sich die reticulären Zellen annähernd gleich verhielten. Das Verhältnis weißer zu roter Vorstufen, am ersten Tag mit 100 : 103 war nicht so stark verändert wie bei Bestrahlung, wechselte am vierten Tag auf 100 : 211 zu Gunsten der roten Vorstufen und blieb dann bis zum siebten Tag konstant. Die Zellen der granuloblastischen Reihe hatten sich am vierten Tag bereits wieder normalisiert. Die Fettvakuolisierung war hier anfangs etwas stärker als bei Bestrahlung, war aber später nicht mehr feststellbar. Plasmazellen waren am vierten Tag besonders zahlreich.

c) Natulan



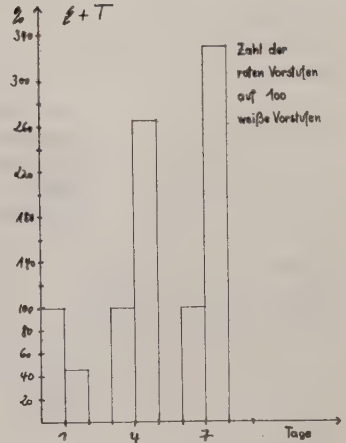
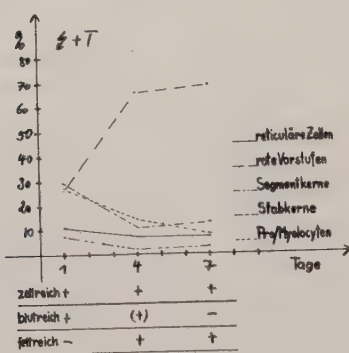
Bei diesem Cytostaticum ergaben sich am ersten Tag nach Behandlungsende fast die gleichen Prozentverhältnisse der Zellgruppen wie nach Bestrahlung. Am vierten Tag lag die Gruppe der Myelocyten und Stabkernigen noch über der Norm, während der Anstieg der roten Vorstufen auf 35 % und auf ein Verhältnis von lediglich 100 : 109 weit unter der Norm und dem vergleichbaren Stand der vorher besprochenen Therapiearten blieb. Während sich das Verteilungsbild der weißen Reihe am siebten Tag wieder völlig normalisiert hatte, lagen die roten Vorstufen nur mit 48 % gegenüber 41 % leicht über der Norm. Es fanden sich zahlreiche Eosinophile bei normaler Plasmazellzahl. An den zellreichen Präparaten war keine übermäßige Lipomatose feststellbar.

d) Trenimon und Bestrahlung



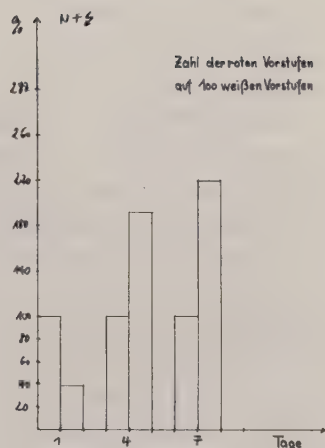
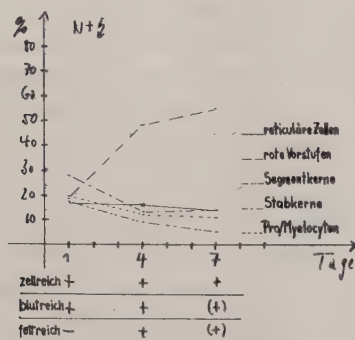
Gegenüber der einfachen Bestrahlung fand sich kaum ein Unterschied. Die anfänglich prozentual vermehrten weißen Zellen fielen zum vierten Tag etwas stärker. Die Erythroblasten fielen nach einem Anstieg am vierten Tag auf ein Verhältnis von 100 : 196, zum siebten Tag auf ein Verhältnis von 100 : 179. Die zellreichen Präparate zeigten am Anfang eine deutliche, später eine nur noch angedeutete Lipomatose. Am ersten Tag fanden sich sehr viele Plasmazellen. Die großen unreifen Promyelozyten wiesen Kernstörungen auf.

e) Bestrahlung und Trenimon



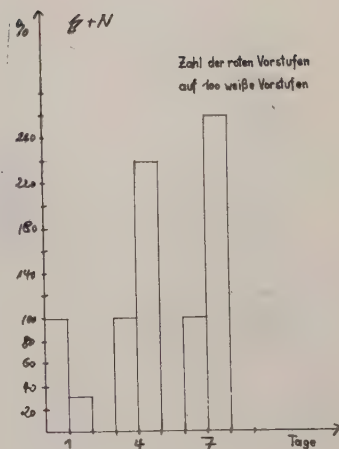
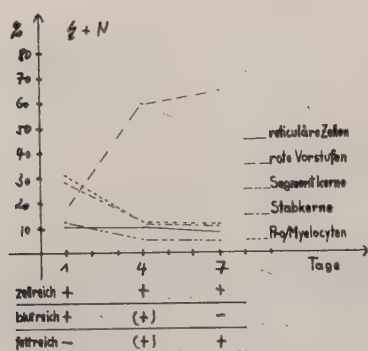
Bei dieser Reihenfolge der Therapieart zeigte sich am ersten Tag ein stärkeres Ansteigen der Gruppe der Pro-/Myelocyten gegenüber allen vorher besprochenen Behandlungsarten. Dagegen stiegen die Segmentkernigen geringfügiger bei stärkerem Abfall der reticulären Zellen. Im Verlauf war der relative Anstieg der roten Vorstufen von allen Behandlungsarten am ausgeprägtesten von 100 : 46 am ersten Tag auf 100 : 329 am siebten Tag. Die Stabkernigen und die reticulären Zellen blieben auch noch am siebten Tag beträchtlich unter Norm. Am vierten und siebten Tag war eine deutliche Lipomatose erkennbar.

f) Natulan und Bestrahlung



Hier waren die Zellverteilungsänderungen am ersten Tag fast der einfachen Natulanbehandlung gleich. Lediglich die Segmentkernigen fanden sich etwas stärker vermehrt. Am vierten und siebten Tag erreichten die Stabkernigen nicht die Normalwerte, während das Verhältnis der roten zu den weißen Vorstufen mit 100 : 220 am siebten Tag über dem der einfachen Cytostaticatherapie lag. Die Lipomatose war am vierten Tag am Ausgeprägtesten. Eosinophile und Plasmazellen waren anfangs vermehrt.

g) Bestrahlung und Natulan



Bei dieser letzten Gruppe war die Linksverschiebung am ersten Tag durch Ansteigen der Myelocyten noch deutlicher als bei der Kombination von Bestrahlung und Trenimon. Auch hier blieben die Stabkernigen und reticulären Zellen weit unter Norm, bei einem steilen Anstieg der roten Vorstufen von 26 % oder im Verhältnis 100 : 31 auf 69 % oder im Verhältnis 100 : 278 am siebten Tag. Die am vierten Tag angedeutete Lipomatose war am siebten Tag deutlich feststellbar.

IV. Diskussion

Die Schwierigkeiten, verlässliches Vergleichsmaterial aus der Literatur über die Wirkung der hier verwendeten Cyto-statica und ionisierender Strahlen sowie deren Kombination auf Knochenmark und Milz zu erhalten, sind - wie schon erwähnt - beträchtlich, da die Methoden der verschiedenen Autoren bezüglich Applikationsform und Dosis sowie auch cytologische Differenzierung und Auszählverfahren sehr unterschiedlich sind. In methodisch vergleichbaren Untersuchungen fanden BIERBRAUER (61) und GERHARTZ (57) nach Trenimon mit dem Zweieinhalbfachen der hier gegebenen Dosis einen starken Abfall der Zellen der Erythro- und Granulopoese mit anschließender langsamer und nicht überschießender Regeneration. Die hier vorgelegten Ergebnisse lassen bei geringerer Dosierung keine entscheidenden Verschiebungen der verschiedenen Zellgruppen untereinander erkennen. Im Verlauf wird allerdings eine deutliche relative Vermehrung der roten Vorstufen feststellbar, wobei nicht immer bei den Zellelementen eine hundertprozentig sichere Differenzierung gegenüber lymphatischen Zellen erfolgen kann. Sicherlich ist ein geringer Teil des anfänglichen Abfalls auch durch lymphoide Zellen bedingt, die sich im Ausstrich-Präparat, je nach Färbeintensität, kaum von roten Vorstufen trennen lassen. Entsprechende Spezialfärbungen würden vielleicht weiterführen. Eine ähnliche Vermehrung als Ausdruck überschießender Regeneration der roten Reihe konnte von SCHNEIDER (7) bei einem fraktionierten Behandlungsmodus mit kleinen Dosen und konsekutiver Applikation beobachtet werden. Wichtig ist, daß die Regeneration bei der in diesem Versuch gewählten Dosierung sehr rasch verlief. Unter der Behandlung mit Natulan ist der anfängliche Sturz der roten Vorstufen mit relativer Vermehrung der reticulären Zellen am ausgeprägtesten, die Regeneration der roten Reihe zeitlich verzögert.

Die Reaktion des Knochenmarks auf ionisierende Strahlen unter-

scheidet sich im cytologischen Bild nicht prinzipiell von der Reaktion auf Cytostatica. LANGENDORFF und PAPPERITZ (24) beschrieben nach einmaliger Ganzkörperbestrahlung von 400 R am Knochenmark der Ratte den initialen Abfall und die wellenförmige Regeneration der weißen Reihe mit maxima am 20. und am 60. Tag post applicationem. Die rote Reihe regenerierte schneller und zeigte am 12. Tag ein Maximum an Vorstufen, die zu diesem Zeitpunkt den größten Anteil an der Gesamtzellzahl ausmachten. Bei der bedeutend niedrigeren Dosierung von 150 R in der vorliegenden Arbeit ist die weiße Reihe weniger betroffen; diese Zellreihen sind durch die Minderung der roten Vorstufen relativ starker vertreten. Im Verlauf stellt sich ebenfalls eine Verschiebung zu Gunsten der roten Vorstufen ein, die allerdings nicht so stark in Erscheinung tritt wie nach der Trenimon-Therapie. Die anfängliche Abnahme roter Vorstufen mit dem relativen Anstieg der Zellen der weißen Reihe könnte ein Hinweis auf die stärkere Sensibilität der Erythropoese darstellen, wie sie von COTTIER (64) und BLOOM (60) beschrieben wurde. Bei den Kombinationen scheint die Summation der Effekte stark abhängig von Applikation und Dosierung. SCHNEIDER (6) fand allerdings, bei konsekutiver, also nicht simultaner Kombination mit Lokalbestrahlung keine Addition. Solitäre Lokalbestrahlung brachte ebenfalls kaum eine Änderung des Hämyelogramms. Bei simultaner Anwendung von Ganzkörperbestrahlung und Trenimon sind an Einzelkriterien wie Knochenmarkshistologie, Tumorstadium und -Gewicht additive Effekte erkennbar, die aber nicht mit Heilungsdauer und Überlebenszeit korrelieren (32, 36). CHEVALIER et al. (65, 67, 69) fanden bei simultaner Kombination von Cyclophosphamid (15 mg/kg) und Ganzkörperbestrahlung (80 R) eine Addition der Einzeleffekte bei Zählung der gesamten Knochenmarkszellen, aber keine darüber hinausgehende Potenzierung. Bei höheren Cyclophosphamiddosen war die Addition sehr unvollständig.

Auch bei anderen Cytostatica wie Natulan wirkt sich eine starke Dosissteigerung nachteilig aus (32). An einem anderen

Modell brachten hohe Strahlendosen bei niedrigen Cytostaticadosen den maximalen Effekt (71). In der hier verwendeten Versuchsanordnung ist der Charakter der Knochenmarksreaktion unter den verschiedenen Therapie-Arten sehr ähnlich und nur im Grad der Ausprägung verschieden. Bei vorausgegangener Bestrahlung scheint im Verlauf die Verschiebung zu Gunsten der roten Vorstufen bei relativer Verminderung der Metamyelocyten am stärksten ausgeprägt, wie aus dem Vergleich der roten zu den weißen Vorstufen hervorgeht. Bei den anderen Kombinationen ist dieser Unterschied im Ausprägungsgrad gegenüber den Einzelbehandlungen nicht so deutlich. Unterschiede zwischen Trenimon und Natulan zeigten sich bei den Einzelbehandlungen in der Reaktion der Erythropoese. Bei den entsprechenden Kombinationen kam dieser Unterschied weniger zum Ausdruck.

Die qualitative Milzcytologie zeigt ebenfalls lediglich verschiedene Ausprägungsgrade der gleichen Reaktion, wobei eine relative Vermehrung der kleinen lymphoiden Zellen bei Verminderung der jungen Lymphocyten im Vordergrund steht. Diese Verschiebung ist bei Bestrahlung am ausgeprägtesten und entspricht der von SCHERER (28) beschriebenen Reaktion. Am 7. Tag ist noch keine Normalisierungstendenz vorhanden. Bei den Cytostatica und den Kombinationen sind die Abweichungen von der Norm gering. Bei fraktionierter Trenimon-Therapie konnte SCHNEIDER (7) die oben beschriebene Reaktion ebenfalls beobachten.

Eine Vermehrung epitheloider Zellen, die als Umwandlungsprodukt aus Reticulumzellen durch verstärkte Resorption der zerfallenen Lymphocyten aufzufassen sind (COTTIER 64), ist am 4. Tag angedeutet vorhanden.

Abschließend kann gesagt werden, daß sich anhand der Milzcytologie keine verwertbaren Aussagen über die Intensität

schädigender Wirkungen machen lassen. Am Knochenmark konnten ebenfalls keine grundsätzlichen Reaktionsunterschiede, sondern nur differente Ausprägungsgrade der gleichen Reaktion festgestellt werden. Die Kombinationsbehandlungen, besonders mit vorausgegangener Bestrahlung scheinen am wirkungsvollsten. Mit morphologischen Untersuchungen der angegebenen Methodik läßt sich allerdings eine Summation nicht sicher verifizieren, wenn auch Anhaltspunkte für eine verstärkte Reaktion vorliegen.

Schrifttum

1. BAUER, K. H.: Das Krebsproblem.
Springer-Verlag, 2. Aufl, Berlin,
Göttingen, Heidelberg 1963
2. DU MESNIL DE ROCHEMONT, R., R. RINGLEB, H. SCHNEIDER:
Strahlentherapie 109 (1959) 211
3. HAAS, E.: Strahlentherapie 110 (1959) 541
4. PETERS, K., G. STEIN:
Strahlentherapie 125 (1964) 258
5. RINGLEB, R., E. SCHERER, E. SCHNABEL:
Strahlentherapie 112 (1960) 273
6. SCHNEIDER, R.: Strahlentherapie 119 (1962) 104
7. SCHNEIDER, R.: Strahlentherapie 126 (1965) 21, 339
8. COHRS, P., R. JAFFE, H. MEESSEN:
Pathologie der Laboratoriumstiere.
I. Band, Berlin, Göttingen, Heidelberg 1961
9. MEYTHALER, F., HOLDER, R. DU MESNIL DE ROCHEMONT:
Therapie der Tumoren.
I. Band, Stuttgart 1966
10. Medizin und Chemie, Band VII, Berlag Chemie, 1963
11. HOLZER, H.: Biochem. Zeitschrift 330.59 (1958)
12. PÜTTER, J.: Arzneimittelforschung 10, 8-12 (1960)
13. WARBURG, O.: Über den Stoffwechsel der Tumoren.
Springer-Verlag, 1926
14. HÖLZEL, F.: Dtsch. med. Wschr. 87, 1663 (1962)
15. PALME, LISS: Naturwiss. 50, 672 (1963)
16. Deutsche Hoffmann-LaRoche: Natulan
17. BERNEIS, K., M. KOFLER, W. BOLLAG:
Helvetica Chimica Acta 46, 2157 - 67. (1963)
18. WARBURG, O.: Weiterentwicklung der Zellphysiologischen
Methoden.
Thieme-Verlag, Stuttgart, 1962

19. FÖLSCH, E., J. DREWS, H. GRUNZE:
70. Kongress d. Gesellschaft für innere
Medizin Wiesbaden 6. 4. - 9. 4. 1967
20. RÜTIHAUSER, A., W. BOLLAG:
Experientia 20, 38-39 (1964)
21. BAUER, R.: Strahlentherapie 67 (1940) 424
22. CASATI: Strahlentherapie 32 (1929) 721
23. WÜNSCHE: Archiv für Exper. Pharm. und Path., 189
(1938)
24. LANGENDORFF, PAPPERITZ:
Strahlentherapie 65 (1939) 624
25. GREGORI: Strahlentherapie 65 (1939) 163
26. POHLE, E. A., C. H. BUNTING:
Strahlentherapie 57 (1936) 121
27. LUTHER, LORENZ: Strahlentherapie 77 (1948) 27
28. SCHERER, E.: Strahlentherapie 100 (1956) 211
29. KNÖRR, GÄRTNER: Strahlentherapie 125 (1964) 239
30. FLEISCHMANN, E., K. KARRER:
Strahlentherapie 114 (1961) 460
31. LÖHR, E., R. SCHNEIDER, L. BUCHELT:
unveröffentlichte Beobachtungen,
32. SCHNEIDER, R.: Strahlentherapie 134 (1967) 22
33. SCHNEIDER, R.: Strahlentherapie 124 (1964) 75
34. KOCH, R., F. J. SCHMUTZ:
Strahlentherapie 125 (1964) 371
35. BARETT, O'N.: Proceedings of the Society for experemen-
tal Biology and Medicine
105 (1960) 445
36. SCHMERMUND, H., G. SCHUBERT, F. OBERHÄUSER:
Sonderbände zur Strahlentherapie,
35 (1956) 180

37. BANE, H. N., J. T. CONRAD, G. S. TARNOWSKI:
Cancer Research 17, 1957, 551
38. KRABBEHOFT, K. L., T. LEUCUNTIA:
American Journal of Roentgenology
79 (1958) 491
39. WATSON, T. A.: American Journal of Roentgenology
75 (1956) 525
40. HUGHES, F. A., J. W. PATE, R. E. CAMPELL:
Journal of thoracic and
Cardiovascular Surgery
39 (1960) 409
41. SVOBODA, V.: Neoplasma 6 (1959), 295
42. CHEVALIER, PH., P. MINET, J. LAVIGNE:
Journal belge de Radiologie
48 (1965) 586
43. PHILLIPS, R., J. NICKSON, D. A. KARNOWSKI, L. D. HAMILTON:
American Journal of Roentgenology
44. LINGS, H.: Strahlentherapie 81 (1951) 379
45. KLVANA, M.: Neoplasma 6 (1959) 183
46. ALEXANDER, C.: American Journal of Roentgenology
87 (1962) 375
47. COOK, J. C.: American Journal of Roentgenology
82, (1959) 651
48. ROSWIT, B., G. KAPLAN:
Radiology 57 (1951) 384
49. LOCHMAN, D. J., R. S. MORRIS:
Radiology 66 (1956) 842
50. GIL y GIL: Strahlentherapie 97 (1955) 105
51. KLIGERMANN, M.: Proc. Conf. Ras. Radiother. Cancer
(1961) 147
52. TARNOWSKI, G. S., N. BANE, J. T. CONRAD, J. NICKSON:
Cancer Research 18, 1958, 225
53. DUSTIN, P.: Nature 159 (1947) 794

54. HILZ, H., B. HUBMANN, M. OLDKOP:
Biochem. Z. 338 (1962)
55. BURK, D.:
Klinische Wochenschrift 35 (1957) 1102
56. GERHARTZ, H., D. ALGENSTAEDT, J. KESSEL:
Internist (1960) 274
57. GERHARTZ, H.:
Blut 5 (1959) 360
58. GERHARTZ, H.:
Sonderbände zur Strahlentherapie
48 (1961) 127
59. BANE, H.:
Cancer Research 17 (1957) 551
60. BLOOM, W.:
Radiation-Biology. 1. Vol. 1954
61. BIERBRAUER, U.:
Folia Haematologica NF 5 (1961) 143
62. SCHNEIDER, R.:
Medizinische Klinik 34 (1962) 1317
63. RINGLEB, D.:
Strahlentherapie 136 (1968) 320
64. COTTIER, H.:
In: Handbuch der med. Strahlenbiologie.
Vol. II, Teil 2, Springer, Berlin 1966
65. CHEVALIER, A., S. MANUEL, D. CHATEAU:
Soc. Biol. 156 (1962) 376
66. JOHNSON, R. E.:
Canc. Chemother. Rep. 31 (1963) 67
67. CHEVALIER, A., S. MANUEL, D. CHATEAU:
Soc. Biol. 158 (1962) 844
68. STOPPA, M., MARTINENGHI, G. AGATI:
Minerva Radiol. 9 (1964) 395
69. CHEVALIER, A.:
Biol. med. 54, 1965, 415
70. FLEISCHMANN, E., K. KARRER:
Strahlentherapie 130 (1966) 586
71. RINGLEB, D., A. G. GRÜNDNER:
5. Intern. Kongr. f. Chemother. Wien,
Verh. II, (1967) 319-23
72. FALKSON, G., TH. FICHARD:
South African Journal of Radiology (1965) 25

73. KLIGERMANN, M.: Progress in Radiation Therapie.
Hrsg. Buschke, Bd. 3, S. 183, NY 1965
74. RANCHANDRA RAO, K.:
Strahlentherapie 134 (1964) 574
75. SCHNEIDER, R.: Strahlentherapie 122 (1963) 290
76. MOESCHLIN, S.: Die Milzpunktion, Basel 1947
77. SANDISON, A. G., G. FALKSON:
South African Journal of Radiology
Vol. IV, Nr. 2, 1966
78. FLUHR, R., L. WEISS, W. GEHLEN:
Strahlentherapie 65 (1939) 624
79. DENSTADT, T.: Acta radiologica, 22 (1941)
80. BAUER, R.: Strahlentherapie 136 (1968) 387
81. MARISIN, H., E. SALOMON, J. LONGUEVILLE:
5. Intern. Kongress f. Chemotherapie,
Wien, Verh. II/2, 1967, 859
82. SCHERER, E., E. H. STENDER:
Strahlentherapie der Zelle
Stuttgart 1963
83. FLIEDNER, TH., R. STODTMEISTER:
Experimentelle und Klinische Strahlen-
hämатologie,
München 1962
84. SIEGEL, G.: Biologische Wirkungen kleiner Dosen
ionisierender Strahlen, Fischer-Verlag,
Jena 1966
85. WILLMANN, H.: Chemotherapie mal. Tumoren, Stuttgart 1960
86. BAUER, R., H. HARTWEG:
Fortschritte auf dem Gebiet der
Röntgenstrahlen
96 (1962) 676
87. a. a. O., 92 (1960) 572
88. a. a. O., 89 (1958) 31

89. FLÖRSHEIM, G. L.: *Experientia* 19, 546. (1963)
90. BOLLAG, W.: *Experientia* 19, 304 (1963)
91. KELLY, M. G., OGARA, R. W. et al.:
Cancer Chemotherapie Report 39, 97 (1964)
92. SCHWARTZ, D., W. BOLLEY, P. OLBRECHT:
Arzneimittelforschung 17, 1389 (1967)
93. BERNEIS, K., W. BOLLAG, M. KOFLER, H. LUTHY:
European Journal of Cancer 2, 43 (1966)
94. FLÖRSHEIM, G. L.: *Helvetica Physiologica Acta* 22 C 121
(1964)
95. BOLLAG, W., E. THEISS:
Chemotherapie of Cancer NY 1964, 311
96. BOLLAG, W.: Übersichtsreferat der Abt. f. wissenschaftl. Med. Hoffmann-La Roche
97. BOLLAG, W.: 3rd. Intern. Congress of Chemotherapie
22. - 27. Juli 1963, Stuttgart, Thieme-Verlag
98. BOLLAG, W.: *Cancer Chemotherapie Report* 33, 1963
99. GELZE, J., P. LONSTALOT:
Intern. Journal of Cancer 2, 179 (1967)
100. MATHE, G. et al.: *THE LANCET* 1963/1077
101. STRICKSTOCK, K. H., P. OLBRECHT:
Krebsforschung und Krebsbekämpfung VI,
366, 1957
102. WITTE, S., H. MARTIN, SCHUBERT, J.:
Schweiz. Med. Wschr. 96 3 (1966)
103. BEGEMANN, H. et al.:
Med. Klin. 24 (1965) 960
104. KUMMERT, H., U. BUCHER:
Schweiz. Med. Wschr. 95, 37, 1233-40 (1965)
105. CLEMENT, F.: a. a. O., 95, 43, 1431-34 (1965)
106. WAGNER, K., H. HAAS, A. MAYERHOLD:
Wiener Klin. Wschr. 77. Jahrg., Nr. 36
S. 589

Lebenslauf

Am 9. 2. 1942 wurde ich als drittes Kind des Wirtschaftsprüfers Dr. Johannes Reichelt und Erna Reichelt geb. Zimmerling in Brandenburg (Havel) geboren. Nach vier Jahren Volksschule in Opladen und Düsseldorf kam ich 1952 auf das Leibnitz-Gymnasium und später auf das mathematisch-naturwissenschaftliche Max-Planck-Gymnasium in Düsseldorf. Im Februar 1961 machte ich dort das Abitur. Vom 1. 4. 1961 bis 31. 8. 1962 leistete ich meinen Grundwehrdienst ab und machte den vorgeschriebenen Krankenpflegelehrgang am Bundeswehrlazarett Koblenz. Ab Wintersemester 1962/63 studierte ich in Marburg Medizin, machte im August 1963 das Vorphysikum und im April 1965 das Physikum an der gleichen Universität. Nach einem Sommersemester 1965 in Kiel kehrte ich nach Marburg zurück und machte im Juli 1968 das Staatsexamen. Die vorgeschriebenen Famulaturen leistete ich im März 1966 an der Frauenklinik der Universität Marburg, im September 1966 am Bundeswehrlazarett Gießen auf der Inneren Abteilung, und im März 1967 am Pius-Hospital in Oldenburg auf der Inneren Abteilung ab. Seit November 1968 bin ich als Medizinalassistent an der Chirurgischen Privatklinik Dr. Bätzner GmbH. in Wildbad (Schwarzw) tätig.

Meine akademischen Lehrer waren die
Herren Professoren und Dozenten

in Marburg: Petry, Walcher, Dimroth, Seidel,
Wendt, Bücher, Hensel, Karlson, Rohen,
Gedigk, Schmid, Martin, Schwaiger,
Buchholz, Siegert, Linneweh, Straub,
Heuser, Siess, Löhr, Braun-Falco,
Schleyer, du Mesnil de Rochemont,
Streicher, Exner, Berendes, Jacob

In Kiel: Lennert, Herrlinger, Bernsmeier,
Portwich

Strahlenheilkunde

Wolfgang Reichelt

Die Problematik cytologischer Untersuchungen von Knochenmark und Milz bei simultaner Kombination von Cytostatica und ionisierenden Strahlen.

Geb. am 9. Februar 1942 in Brandenburg/Havel

Vorbildung: Max-Planck-Gymnasium Düsseldorf. Reifeprüfung:

27. Februar 1961 Düsseldorf, Studiengang: Marburg

10 Semester, Kiel 1 Semester. Staatsexamen: 25. Juli 1968 in Marburg.

Promotion: 24.4.69

Referent: Priv. Doz. Dr. med. R. Schneider

Correferent: Prof. Dr. med. R. du Mesnil de Rochemont

Die vorliegende tierexperimentelle Arbeit befaßt sich mit der Wirkung von Cytostatica und Bestrahlung, sowie deren Kombinationen in verschiedener Reihenfolge auf Knochenmark und Milz der Ratte.

In der Einleitung werden kurz die Wirkungsmechanismen, tierexperimentelle und klinische Ergebnisse der verwendeten Cytostatica Trisaethyleniminobenzochinon (Tremimon) und Ibenzmethyazin (Natulan) und ionisierender Strahlen anhand der Literatur beschrieben.

Im folgenden findet die Untersuchung statt, ob eine simultane Kombination der verschiedenen Noxen zu einer Summation oder Potenzierung der Einzeleffekte führt, und ob die Reihenfolge der Behandlung bei den Kombinationen auf die Stärke der Reaktion einen Einfluß hat.

Die Untersuchungen erfolgen an Knochenmarkabstrichen und Milztupfpräparaten mit drei Verlaufskontrollen in jeweils dreitägigem Abstand am ersten, vierten und siebten Tag post applicationem. Als Vergleich dienen unbehandelte Kontrollen. Die Zelldifferenzierung orientiert sich an einer Einteilung aus der Literatur.

Das Hämyogramm gliedert sich in fünf, das Splenocytogramm in acht verschiedene Zellengruppen. Die angegebenen Prozentzahlen sind relativ, bezogen auf hundert ausgezählte Zellen. Die Wirkung der Behandlung zeigt sich in einer Verschiebung der prozentualen Verteilung der verschiedenen Gruppen und in der Zeitdauer der Normalisierung. Die Cytostatica werden in einmaligen hohen Dosen (Natulan $1/3$ der LD 50, Trenimon $1/5$ der LD 50) intraperitoneal injiziert, die Bestrahlung wird als einmalige Ganzkörperbestrahlung von 150 R unter konventionellen Röntgentiefentherapiebedingungen durchgeführt.

Der Ablauf der Veränderungen in den verschiedenen Zellsystemen wird für jede Behandlungsgruppe graphisch dargestellt. Eine gesonderte Gegenüberstellung der Vorstufen der Granulopoese und der Erythropoese macht die auffälligen Verschiebungen in diesen Zellsystemen deutlich.

Die Reaktion des Knochenmarks auf die verschiedenen Noxen wird bestimmt durch einen initialen Rückgang roter Vorstufen und einer starken Vermehrung dieser Zellen im Verlauf mit entsprechender Abnahme der weißen Vorstufen und der reticulären Zellen. Nach Natulan ist die Abweichung von der Norm am geringsten, während nach Trenimon die stärksten Veränderungen beobachtet werden. Bei den Kombinationen sind die Verschiebungen etwas stärker ausgeprägt, als bei den Einzelbehandlungen. Bei den Kombinationen mit vorausgegangener Bestrahlung wird der stärkste Ausprägungsgrad gefunden. Die Erholungsphase ist verlängert. Die Milzreaktion ist gekennzeichnet durch eine Vermehrung kleiner lymphoider Zellen bei Verminderung der jungen Lymphozyten. Diese Veränderung ist nach Bestrahlung am deutlichsten und läßt auch im Verlauf noch keine Normalisierung erkennen. Bei den Einzelbehandlungen mit den verschiedenen Cytostatica und allen Kombinationen lassen sich keine sicheren Aussagen über die Intensität der schädigenden Wirkungen machen, obwohl nach Kombination ein verstärkter Effekt vorzuliegen scheint.

In der Diskussion werden diese Ergebnisse mit denen anderer Autoren verglichen. Auf die Schwierigkeiten solcher Vergleiche wird hingewiesen. Es werden Arbeiten an ähnlichen Modellen angeführt, in denen eine Summation der Einzeleffekte bei Kombinationen von Cytostatica und Bestrahlung beschrieben werden. Gegenteilige Ergebnisse aus der Literatur könnten sich auf methodische Unterschiede zurückführen lassen. Mit den durchgeführten morphologisch-cytologischen Untersuchungen ist eine Summation der Einzelwirkungen nicht mit allerletzter Sicherheit nachzuweisen.

